

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-149238

(43)Date of publication of application : 21.05.2003

(51)Int.Cl. G01N 33/53
C12M 1/00
G01N 21/78
G01N 33/483
G01N 37/00

(21)Application number : 2001-343020 (71)Applicant : YOKOGAWA ELECTRIC CORP

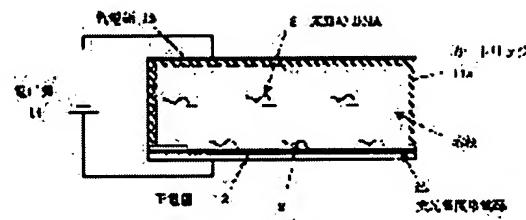
(22)Date of filing : 08.11.2001 (72)Inventor : OTSUBO MINORU
TANAAMI TAKEO

(54) BIOCHIP AND GENE SEQUENCE MEASURING APPARATUS USING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To realize a gene analytical chip by which the high speed and the high sensitivity of hybridization are achieved by an electric-field hybridization system in which a metal layer on a fluorescence-intensity enhancement chip is used as an electrode.

SOLUTION: In the biochip in which a plurality of biopolymers are arranged, a transparent layer having a function to enhance a fluorescence intensity is formed on the metal layer used as the electrode on one side for executing the hybridization.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 20.08.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

THIS PAGE BLANK (USPTO)

the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

【特許請求の範囲】

【請求項1】複数の生体高分子を配置したバイオチップにおいて、ハイブリダイゼーションを行うための一方の電極として兼用される金属層の上に蛍光強度増強の機能を有する透明層を持つことを特徴とするバイオチップ。

【請求項2】前記透明層は、その厚さが前記蛍光の波長の $1/4 + i/2$ ($i = 0, 1, 2, \dots$) であることを特徴とする請求項1記載のバイオチップ。

【請求項3】前記金属層はA gまたはA lで形成され、前記透明層はガラスまたはゲルまたは樹脂で形成されたことを特徴とする請求項1または2記載のバイオチップ。

【請求項4】前記ハイブリダイゼーションが電界促進型または電流促進型で行われるように構成されたことを特徴とする請求項1ないし3記載のバイオチップ。

【請求項5】前記電界促進型における電極への印加電圧は直流または交流またはパルスであることを特徴とする請求項4記載のバイオチップ。

【請求項6】複数の生体高分子を配置し、ハイブリダイゼーションを行って生体高分子の遺伝子配列を測定するように構成された遺伝子配列測定装置において、生体高分子を含んだ溶液が充填されたカートリッジと、このカートリッジの内に取り付けられ、ハイブリダイゼーションを行うための電極として兼用される金属層とその上に積層された蛍光強度増強の機能を有する透明層から形成され、この透明層に既知の生体高分子が固定化されるバイオチップと、

前記カートリッジに取付けられたハイブリダイゼーション用の負の電極と、

前記バイオチップの金属層と前記負の電極の間に電圧を印加する手段を備え、前記透明層または金属層に固定化された既知の生体高分子に前記溶液中に浮遊した蛍光標識付きの未知の生体高分子をハイブリダイゼーションにより相補的に結合させて生体高分子の遺伝子配列を測定することができるようにした遺伝子配列測定装置。

【請求項7】前記バイオチップの金属層がA gまたはA lで形成され、透明層がガラスまたはゲルあるいは樹脂で形成されたことを特徴とする請求項6記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項8】前記バイオチップは、透明層の厚さが蛍光の波長の $1/4 + i/2$ ($i = 0, 1, 2, \dots$) であることを特徴とする請求項6記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項9】前記負の電極は、ハイブリダイゼーション後にカートリッジから取り外せるかまたは透明電極で形成されたことを特徴とする請求項6ないし8記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項10】前記電圧を印加する手段は、直流または交流あるいはパルス電圧を印加することができるよう

構成されたことを特徴とする請求項6ないし9記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項11】前記負の電極はカートリッジの内面に取り付けられ、前記ハイブリダイゼーションが電流促進型で行われるように構成されたことを特徴とする請求項6記載の遺伝子配列測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、DNAや蛋白等の生体高分子の遺伝子の配列を調べるためのバイオチップおよびそれを用いた遺伝子配列測定装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】既知のDNAを固定した基板上に未知のDNAを流してハイブリダイゼーションすることにより、対応するDNA配列に未知のDNAを結合させることができ。この場合、未知のDNA側に蛍光試薬を結合しておくことにより、既知のDNAと結合した未知のDNA配列を知ることができる。

【0003】図4(a)に示すように、既知のDNA2が固定された電極1に正の電圧を印加すると、DNAが負に帯電しているため、未知のDNA3は同図(b)に示すように電極1側に引き寄せられる。これにより数時間かかっていたハイブリダイゼーションは数十秒で完了することになる。

【0004】この原理を応用してハイブリダイゼーションを高速化するものとして、例えば、特願平2000-271357号に記載の遺伝子配列を計測するための測定装置がある。この測定装置は図5のように構成されている。絶縁体で形成されたカートリッジ11の内部には、既知のDNA2と未知のDNA3が混入した液体が密封状に充填されている。

【0005】既知のDNA2は同図(a)のようにカートリッジ11の壁面に固定化されている。カートリッジ11を挟んで配置された正電極12と負電極13に電圧源14から電圧が印加されると、浮遊している未知のDNA3は負に帯電しているため同図(b)に示すように正電極12側に引き寄せられて既知のDNA2に接近する。このようにしてハイブリダイゼーションの高速化が可能となる。

【0006】また、未知のDNAを蛍光物質で標識しておき、これに励起光を照射して蛍光を発生させる場合、検出される蛍光強度が強ければ強いほどその系における検出感度は高くなる。すなわち、より微量の蛋白質や核酸を定量することが可能となる。このため、等量の蛍光物質からの蛍光を増強することは極めて有意義なことである。

【0007】米国特許4,649,280には、図6に示すようにガラス基板21の上に金属22、誘電体23、蛍光物質24を重ねた構造として、蛍光物質24か

ら発生する蛍光の強度を増幅できるようにした蛍光強度増強チップが記載されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、従来のこれらチップには次のような課題があった。高速ハイブリダイゼーション用のチップの場合、

(a) カートリッジにはある程度の厚みが必要であるため、電極間距離が長くなり、電界強度が低下する。

(b) カートリッジや電極などの部品が必要となる構成であるため部品点数が多くなる。

(c) ハイブリダイゼーションの速度は速くなるが感度が向上するわけではない。

【0009】他方、蛍光強度増強チップの場合は、感度は向上するがハイブリダイゼーション速度が速くなるわけではない。

【0010】本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、特有の蛍光強度増強部および蛍光強度増強部の金属層を電極に兼用してハイブリダイゼーションを行うことによりハイブリダイゼーションの高速化と高感度化を図ることのできるバイオチップおよび遺伝子配列測定装置を実現することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】このような目的を達成するために、請求項1の発明では、複数の生体高分子を配置したバイオチップにおいて、ハイブリダイゼーションを行うための一方の電極として兼用される金属層の上に蛍光強度増強の機能を有する透明層を持つことを特徴とする。このようなバイオチップによれば、ハイブリダイゼーションの高速化と高感度化を実現できる。また、金属層がハイブリダイゼーション用の一方の電極を兼ねるため従来のバイオチップに比べて部品点数が減り、また薄い透明層により絶縁されるため電極間距離を短くすることができるという効果がある。

【0012】また、請求項6の発明では、複数の生体高分子を配置し、ハイブリダイゼーションを行って生体高分子の遺伝子配列を測定するように構成された遺伝子配列測定装置において、生体高分子を含んだ溶液が充填されたカートリッジと、このカートリッジの内に取り付けられ、ハイブリダイゼーションを行うための電極として兼用される金属層とその上に積層された蛍光強度増強の機能を有する透明層から形成され、この透明層に既知の生体高分子が固定化されるバイオチップと、前記カートリッジに取付けられたハイブリダイゼーション用の負の電極と、前記バイオチップの金属層と前記負の電極の間に電圧を印加する手段を備え、前記透明層に固定化された既知の生体高分子に前記溶液中に浮遊した蛍光標識付きの未知の生体高分子をハイブリダイゼーションにより相補的に結合させて生体高分子の遺伝子配列を測定することができるようにしたことを特徴とする。このような構成によれば、特有の構造の蛍光強度増強部を使用した

ことおよびその金属層を電極としても兼用したことにより、従来の遺伝子配列測定装置に比べてハイブリダイゼーションの高速化と高感度化が同時に実現できると共に部品点数の少ない遺伝子配列測定装置を容易に得ることができる。

【0013】

【発明の実施の形態】以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図1は本発明に係るバイオチップを用いた測定装置の一実施例を示す要部構成図である。図1において、図5と同等部分には同一符号を付してある。図5と異なるところは、透明材料で形成されたカートリッジ11aの底面が蛍光強度増強部30で形成され、カートリッジ11aの上面には着脱可能に構成された負電極13が取り付けられた構造になっている点である。

【0014】図2は蛍光強度増強部30の部分拡大図である。この蛍光強度増幅部30は、ガラス基板31の上に金属層32と透明層33が積層された構造であり、カートリッジ11aの底面に、透明層33が内側になるようにして密封状に取り付けられている。この場合、金属層32は蛍光強度増強用の反射ミラーの作用効果を持つが、ハイブリダイゼーションの正電極としても兼用される。また、透明層33はハイブリダイゼーションにおける絶縁体としても兼用される。

【0015】この場合、透明層33は、所定の厚さ、例えば蛍光の波長の1/4あるいはこれに1/2波長の整数倍を加えた厚さ[すなわち、(蛍光の波長の1/4+i/2)(ただし i=0, 1, 2, ...)の厚さ]であれば、蛍光強度を増強する作用があり、ガラス、ゲルあるいは樹脂などの材質で形成されたものである。金属層33はA_gあるいはA₁などで形成されている。

【0016】このような構成における動作を次に説明する。既知のDNA2は蛍光強度増強部30の透明層33の表面に固定化されている。溶液と絶縁された蛍光強度増強用の金属層32は正電極として利用する。この正電極と負電極13は対向しており、この電極に挟まれた領域に、荷電したDNAなどの生体高分子溶液が存在する形である。

【0017】電圧源14より上記電極に電圧を印加し、電界をかける。DNAは負に荷電しているため正電極側に引き寄せられ、未知のDNA3が相補的な関係にある既知のDNAとハイブリダイゼーションする。ハイブリダイゼーション後は電極への電圧印加を取りやめ、負電極13をカートリッジ11aから取り外す。

【0018】既知のDNAに結合した未知のDNA3には蛍光標識がしてあるので、カートリッジ11aの蛍光強度増強部30を蛍光測定するとその未知のDNAの配列を測定することができる。

【0019】本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。例えば、負電極13を透明電極

とすれば、ハイブリダイゼーション後のDNA配列測定時には電極を取り外さなくても測定することができる。また、金属膜32としては、AgまたはAlが使用できる。

【0020】また、上記実施例は溶液に電界を印加してハイブリダイゼーションを高速化するいわゆる電界促進型であるが、図3に示すような電流促進型とすることもできる。図3において、13aは負電極、30aは金属層32と透明層33から構成される蛍光強度増強部である。負電極13aと蛍光強度増強部30aの金属層32(正電極を兼ねている)は、絶縁体のカートリッジ11の内壁面に取付けられている。なお、負電極13aは金属層32と離れた位置にあればカートリッジ内面の何処に取り付けても構わない。

【0021】このような構成においても、図1の場合と同様に蛍光強度増強部30の透明層33の表面に既知のDNA2が固定化されていて、電圧源14から電圧を印加すると(溶液中に電流は流れるが)、負に帯電した未知のDNA3は正電極(金属層32)側に引き寄せられ、相補的な関係にある既知のDNA2とハイブリダイゼーションする。

【0022】また、図1および図3に示す透明層33としては、ガラスに限らず、ゲルや樹脂を使用することもできる。また、電圧源14からの印加電圧は、直流に限らず、交流やパルスであっても構わない。また、既知のDNAは透明層33の表面ではなく、下地の金属層32に固定してもよい。これは透明層がゲルなどの場合に特に有効である。

【0023】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

(1) 蛍光強度増強部の使用および蛍光強度増強部の金

属層を電極に兼用することにより、電界促進型あるいは電流促進型のハイブリダイゼーションの高速化と高感度化が同時に実現できる。

(2) 蛍光強度増強部の金属層を電極に兼用したため、従来のように別途正電極を設ける必要はなく、部品点数は少なくなる。

(3) 薄い透明層で絶縁されるため電極間距離を容易に短くすることができ、カートリッジの小型化、ハイブリダイゼーションの高速化が容易に実現できる。

10 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係るバイオチップを用いた測定装置の一実施例を示す要部構成図である。

【図2】蛍光強度増強部の部分拡大図である。

【図3】本発明の係るバイオチップを用いた測定装置の他の実施例を示す要部構成図である。

【図4】DNAを電極に引き寄せる場合の説明図である。

【図5】従来の測定装置の一例を示す構成図である。

【図6】従来の蛍光強度増強チップの一例を示す構成図である。

【符号の説明】

2 既知のDNA

3 未知のDNA

11, 11a カートリッジ

12 正電極

13 負電極

14 電圧源

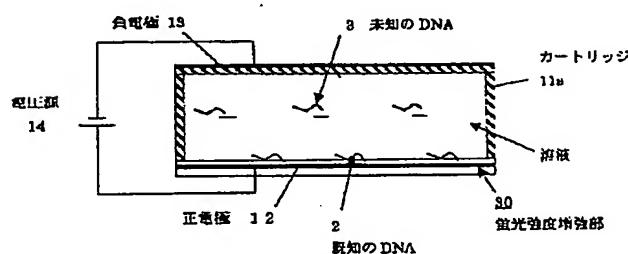
30, 30a 蛍光強度増強部

31 ガラス基板

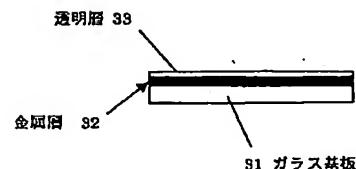
32 金属層

33 透明層

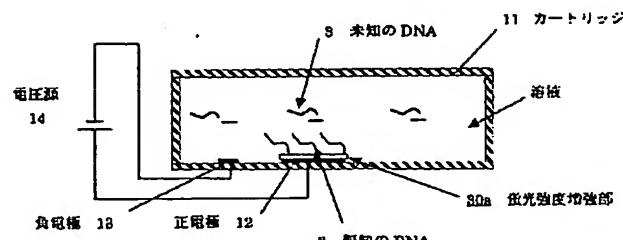
【図1】



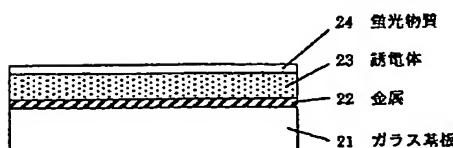
【図2】



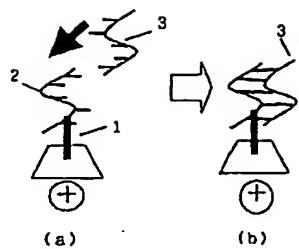
【図3】



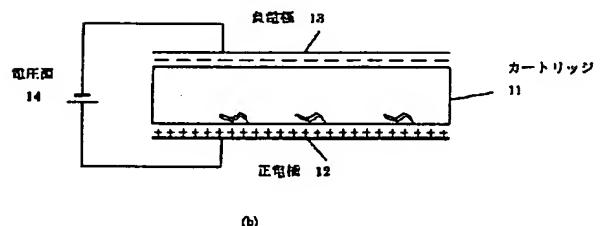
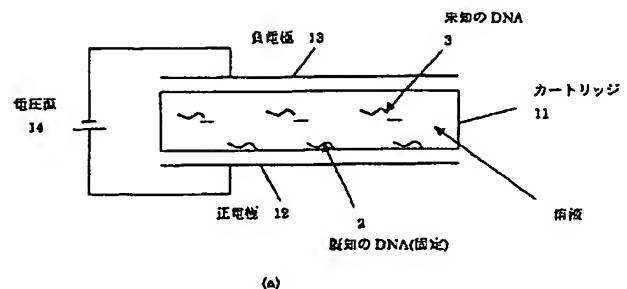
【図6】



【図4】



【図5】



THIS PAGE BLANK (USPTO)